



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 697 33 594 T2 2005.11.03

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 0 818 529 B1

(51) Int Cl.⁷: C12N 1/00

(21) Deutsches Aktenzeichen: 697 33 594.1

(96) Europäisches Aktenzeichen: 97 201 703.2

(96) Europäischer Anmeldetag: 05.06.1997

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 14.01.1998

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 22.06.2005

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 03.11.2005

(30) Unionspriorität:

96201922 09.07.1996 EP

96202518 10.09.1996 EP

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI,
LU, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:

Société des Produits Nestlé S.A., Vevey, CH

(72) Erfinder:

Meister, Niklaus, 3506 Grosshöchstetten, CH;
Aebischer, Jürg, 3097 Liebefeld, CH; Vikas, Martin,
3510 Konolfingen, CH; Eyer, Kurt, 3600 Thun, CH;
De Pasquale, David, 3510 Konolfingen, CH

(74) Vertreter:

Andrae Flach Haug, 81541 München

(54) Bezeichnung: Verfahren zur Sprühtrocknung

Anlage D3

Einspruch gegen EP 1 289 380

Anmelder: Unilever N.V.

Einsprechende: Neumarkter Lammsbräu

Weickmann & Weickmann

Kopernikusstr. 9, 81679 München

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Sprühtrocknung einer Mikroorganismen enthaltenden Zusammensetzung.

Stand der Technik

[0002] Die Industrie benötigt zur Trocknung von Mikroorganismen Verfahren, die leicht durchzuführen und wirtschaftlich sind. Die Sprühtrocknung besteht im Allgemeinen darin, dass eine Suspension von Mikroorganismen unter einem Heißluftstrom in einer Kammer zerstäubt wird, die zu diesem Zweck einen Heißlufteintritt, einen Luftaustritt und einen Austritt zur Gewinnung des Pulvers von getrockneten Mikroorganismen besitzt.

[0003] Die Trocknung von Mikroorganismen durch Sprühtrocknung hat jedoch den Nachteil, dass die Mikroorganismen beschädigt oder getötet werden, wenn die Trocknungstemperatur sehr hoch ist.

[0004] US 3985901 (Instituto de Biologia Aplicada) erläutert nämlich, dass eine Temperatur von 180°C bis 300°C am Eintritt einer Zerstäubungsvorrichtung alle lebenden Organismen töten kann. Diese Beobachtungen werden auch in EP 298605 (Unilever: Seite 2, Zeilen 43–48) und EP 63438 (Scottish Milk Marke: Seite 1, Zeilen 14–21) bestätigt.

[0005] Manche Milchsäurebakterienarten sind dennoch von Natur thermoresistent, d. h. in der Lage, hohen Temperaturen standzuhalten. Chopin et al. haben nachgewiesen, dass man eine sporenbildende Kultur vom *Microbacterium lacticum* durch Sprühtrocknung bei 215°C trocknen kann und etwas mehr als 10% Überleben nach Trocknung erhalten kann (Canadian J. Microb., 23, 755–762, 1977). Leider gehören diese Arten zu der Nahrungsmittel verunreinigenden Flora, die für das Auftreten von schlechtem Geschmack verantwortlich ist. Diese thermoresistenten Milchsäurebakterien sind also nicht für die menschliche Ernährung geeignet (in "Fundamentally of Food Microbiology, Marion L. Fields, AVI Publishing Comp., Westport, 1979).

[0006] Die Sprühtrocknungstemperatur ist also einer der Faktoren, die die Viabilität der gewöhnlich bei der Fermentation von Nahrungsmittelprodukten verwendeten Mikroorganismen begrenzt. Ferner ist zu bemerken, dass alle gebräuchlichen Verfahren zur Trocknung von Mikroorganismen durch Sprühtrocknung in der Praxis eine Heißlufteintrittstemperatur von etwa 100–180°C verwenden. Außerdem werden bei diesen Verfahren auch Schutzmittel verwendet, um die getrockneten Mikroorganismen am Leben zu halten.

[0007] NL 7413373 (DSO Pharmachim) beschreibt nämlich ein Verfahren zur Sprühtrocknung von durch Milchsäurebakterien fermentierten Cerealien, bei dem die Lufteintritts- und -austrittstemperaturen 150°C bzw. 75°C betragen.

[0008] J73008830 (Tokyo Yakult Seizo) beschreibt ein Verfahren zur Sprühtrocknung von Mikroorganismen, bei dem man eine Lufteintrittstemperatur von etwa 120–155°C, eine Luftaustrittstemperatur von etwa 40–55°C und chemische Schutzmittel verwendet.

[0009] J57047443 (Minami Nippon Rakun) beschreibt ein ähnliches Trocknungsverfahren, bei dem die Lufteintritts- und -austrittstemperaturen etwa 105–150°C bzw. 55–70°C betragen.

[0010] J02086766, J02086767, J02086768, J02086769 und J02086770 (alle von "Kubota") beschreiben Verfahren zur Sprühtrocknung von Mikroorganismen, bei denen die Lufteintritts- und -austrittstemperaturen etwa 110–180°C bzw. 70–75°C betragen.

[0011] SU 724113 (Kiev Bacterial Prep.), SU 1097253 (Protsishin et al.), SU 1227145 (Protsishin et al.), SU 1292706 (Appl. Biochem. Res.) und SU 1581257 (Dairyland Food Labs.) beschreiben ebenfalls Verfahren zur Sprühtrocknung einer Bakterienkultur, bei denen die Lufteintritts- und -austrittstemperaturen etwa 60–165°C bzw. 30–75°C betragen.

[0012] Es ist hervorzuheben, dass durch die Beschränkung der Trocknungstemperatur auf weniger als 200°C bei der Sprühtrocknung von Mikroorganismen im selben Maße die Ausbeute des Verfahrens beschränkt wird. Ziel der Erfindung ist es, diesen Nachteil zu beseitigen.

[0013] Johnson J. A. C. und Etzel M. R. 1995, 78: 761–768, beschreiben ein Trocknungsverfahren, bei dem die Lufteintrittstemperatur 220°C beträgt.

[0014] Die Veröffentlichung von Labuza T. P. et al. 1970, 12: 135–140, betrifft die Sprühtrocknung von Hefen, bei der die Lufteintrittstemperatur 250°C beträgt.

Zusammenfassung der Erfindung

[0015] Zu diesem Zweck betrifft die Erfindung ein Sprühtrocknungsverfahren, bei dem man eine Zusammensetzung herstellt, die für die menschliche Ernährung günstige Mikroorganismen enthält, und sie in einer Sprühtrocknungsvorrichtung mit einer Heißlufteintrittstemperatur von 200–400°C und einer Luftaustrittstemperatur von 40–90°C durch Zerstäubung zu Pulver zerkleinert, wobei die Verweilzeit der Kultur in der Vorrichtung so eingestellt ist, dass nach Trocknung mindestens 1% Mikroorganismen überleben.

[0016] Man hat mit Überraschung festgestellt, dass eine Sprühtrocknungsvorrichtung mit einer Lufteintrittstemperatur von mehr als 200°C und sogar mehr als 300°C die für die menschliche Ernährung günstigen Mikroorganismen nicht oder wenig beschädigt, solange die Verweilzeit der Tröpfchen in der Vorrichtung so kurz ist, dass die Innentemperatur der Zellen nicht tödlich wird. Es wurde nämlich festgestellt, dass die Innentemperatur der zerstäubten Tröpfchen infolge der durch die Verdampfung von Wasser erzeugten Abkühlung etwa 40–70°C nicht überschreiten kann. Die Erfindung beruht also in der Auswahl der Arbeitsbedingungen, bei denen die zerstäubten Tröpfchen erst am Austritt der Trocknungsvorrichtung in eine getrocknete Form gelangen.

[0017] Man hat festgestellt, dass eine sehr schnelle Trocknung der Mikroorganismen ein gutes Überleben begünstigt. Die Verwendung von hohen Lufteintrittstemperaturen kann auf diese Weise zu einer fast augenblicklichen Trocknung führen.

[0018] Man hat ferner festgestellt, dass man hervorragende Überlebensquoten bei Mikroorganismen erhält, wenn man eine Kultur von Mikroorganismen und eine Nahrungsmittelzusammensetzung gleichzeitig zerstäubt.

Ausführliche Beschreibung der Erfindung

[0019] Zur Durchführung des vorliegenden Verfahrens stellt man eine Kultur eines Mikroorganismus her, der eine Bakterie, eine Hefe, ein Pilz oder eine Mischung dieser Mikroorganismen sein kann. Der Fachmann ist in der Lage, das Kulturmedium zu wählen, das für das Wachstum dieser Mikroorganismen am besten geeignet ist.

[0020] Man stellt vorzugsweise eine Kultur von mindestens einem Mikroorganismus her, der aus der Gruppe ausgewählt wird, die von den für die menschliche Gesundheit vorteilhaften Milchsäurebakterien gebildet wird, und zwar insbesondere Bifidobakterien wie *Bifidobacterium infantis*, Laktokokken wie *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactic* biovar *diacetylactis*, Streptokokken wie *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus faecalis*, Laktobazillen wie *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* (mit 6 Untergruppen, davon *L. johnsonii*, siehe Fujisawa et al., Int. J. Syst. Bact., 42, 487–491, 1992), *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus halophilus*, Staphylokokken wie *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus carnosus*, Mikrokokken wie *Micrococcus varians*; Hefen, insbesondere der Gattung *Debaromyces*, *Candida*, *Pichia*, *Torulopsis* und *Saccharomyces* wie *Debaromyces hansenii*, *Candida krusei*, *Pichia saitoi*, *Torulopsis holmii*, *Torulopsis versatilis*, *Torulopsis etchellsii*, *Saccharomyces cerevisiae*, z. B. *S. cerevisiae* NCIMB 40612, beschrieben in EP 663441, *Saccharomyces rouxii*; und die Pilze insbesondere der Gattung *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor* und *Penicillium* wie *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus phoenicis*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus japonicus*, *Rhizopus formosensis*, *Mucor circinelloides*, *Mucor javanicus*, *Penicillium glaucum* und *Penicillium fuscum*.

[0021] Die Erfindung ist beispielsweise besonders für die Mikroorganismen angezeigt, die gegenüber den Sprühtrocknungsbedingungen empfindlich sind, insbesondere diejenigen, die hinsichtlich Wärme empfindlich sind (thermosensibel) und/oder hinsichtlich des Vorhandenseins von Luft (vorzugsweise anaerob). Zu den besonders empfindlichen Mikroorganismen kann man die probiotischen Milchsäurebakterien rechnen. Im Rahmen der Erfindung werden die probiotischen Bakterien als Milchsäurebakterien definiert, die an den menschlichen Darmzellen haften können, pathogene Bakterien an menschlichen Darmzellen ausschließen können und auf das menschliche Immunsystem so einwirken können, dass es auf äußere Angriffe stärker reagieren kann, und zwar beispielsweise indem die Phagozytosefähigkeiten der Granulozyten aus dem menschlichen Blut erhöht werden (J. of Dairy Science, 78, 191–197, 1995).

[0022] Beispielsweise kann man den Stamm *Lactobacillus acidophilus* CNCM I-1225 verwenden, der in EP 577904 beschrieben wird. Dieser Stamm wurde vor kurzem unter *Lactobacillus johnsonii* umklassifiziert, und zwar infolge der neuen Taxonomie, die von Fujisawa et al. vorgeschlagen wurde, der gegenwärtig die Autorität in Sachen Taxonomie der acidophilen Lactobazillen ist (Int. J. Syst. Bact., 42, 487-791, 1992). Andere probiotische Bakterien sind ebenfalls verfügbar, wie z. B. diejenigen, die in EP 199535 (Gorbach et al.), US 5591428 (Bengmark et al.) oder in US 5296221 (Mitsuoka et al.) beschrieben werden.

[0023] Diese Mikroorganismenkultur kann vor oder nach Fermentation mindestens ein chemisches Schutzmittel enthalten, das dafür bekannt ist, dass es das Überleben der Mikroorganismen während der Trocknung und/oder während der Lagerung des Pulvers verbessert. Der Fachmann verfügt über eine umfangreiche Literatur über diese Schutzmittel. Zu diesem Zweck gelten die Schutzmittel, die in den Patenten US3897307, US4332790, J73008830, J57047443, J02086766, J02086767, J02086768, J02086769, J02086770, SU724113, SU1097253, SU1227145, SU1292706 und SU1581257 beschrieben werden, als durch Verweis in der Beschreibung der vorliegenden Erfindung aufgenommen. Diese Schutzmittel können beispielsweise Vitamine wie Ascorbinsäure, Aminosäuren oder ihre Salze wie Lysin, Cystein, Glycin und Natriumglutamat, Proteine oder Proteinhydrolysate, die von Milch oder Soja stammen können, Zucker wie Lactose, Trehalose, Saccharose, Dextrin und Maltodextrin und Fette, insbesondere Butterfett (Butteröl), Palmfett, Erdnussfett, Kakao-fett, Colza-fett oder Soja-fett sein. Diese Schutzmittel können der Kultur beispielsweise in einer Menge von 0,1 bis 80 Gew.-% zugesetzt werden.

[0024] Die Mikroorganismenkultur enthält vorzugsweise mindestens 10^7 lebende Zellenkolonien pro Gramm oder cfu/g (cfu ist die Abkürzung für englisch "colony forming unit"). Man kann diese Kultur auch beispielsweise durch Zentrifugation konzentrieren, um ihren Titer an lebenden Zellen bis auf mindestens 10^8 cfu/g und vorzugsweise 10^8 - 10^{11} cfu/g zu erhöhen.

[0025] Wenn man ein Pulver erhalten möchte, das hauptsächlich aus Mikroorganismen besteht, kann man die Kultur von Mikroorganismen direkt durch Sprühtrocknung trocknen. Wenn man dagegen eine dehydratisierte, in Wasser leicht dispergierbare Nahrungsmittelzusammensetzung, die lebende Mikroorganismen enthält, wünscht, ist es vorzuziehen, alle Bestandteile dieser Zusammensetzung gleichzeitig zu trocknen, anstatt sie herzustellen, indem die einzelnen Bestandteile bereits in trockener Form gemischt werden. Man vermeidet auf diese Weise die Bildung von Klumpen oder unerwünschten Ausfällungen.

[0026] Bei einer ersten Ausführungsart für die Herstellung einer dehydratisierten Nahrungsmittelzusammensetzung kann man die Kultur von Mikroorganismen mit einer flüssigen Nahrungsmittelzusammensetzung mischen, kann man gegebenenfalls die Mischung bis zu einem Wassergehalt von etwa weniger als 70% konzentrieren und die Mischung dann durch Sprühtrocknung unter erfindungsgemäßen Trocknungsbedingungen trocknen. Diese Art der Durchführung ist besonders für hydratisierte Zusammensetzungen auf Milchbasis angezeigt, die Milchsäurebakterien enthalten, die gegenüber Sprühtrocknung wenig empfindlich sind, d. h. in der Lage sind, in einem Anteil von mindestens 10-50% bei den erfindungsgemäßen Trocknungsbedingungen zu überleben. Man kann auf diese Weise insbesondere eine Kultur von Mikroorganismen mit einer Nahrungsmittelzusammensetzung so mischen, dass man eine Mischung erhält, von der mindestens 80 Trocken-gew.-% der Bestandteile von der Nahrungsmittelzusammensetzung stammt, und dann kann man diese Mischung durch Sprühtrocknung bei den erfindungsgemäßen Trocknungsbedingungen trocknen.

[0027] Bei einer zweiten Durchführungsform für die Herstellung einer dehydratisierten Nahrungsmittelzusammensetzung kann man auch in der Sprühtrocknungsvorrichtung eine Mikroorganismen enthaltende Zusammensetzung und eine andere Nahrungsmittelzusammensetzung zusammen zu Pulver zerkleinern. Diese Art der Durchführung ist besonders für dehydratisierte Zusammensetzungen auf Milchbasis angezeigt, die Milchsäurebakterien enthalten, die gegenüber der Sprühtrocknung empfindlich sind, d. h. nicht in der Lage sind, in einer Menge von mindestens 10-50% bei den erfindungsgemäßen Trocknungsbedingungen zu überleben. Insbesondere kann man beispielsweise einen Teil einer Kultur von Mikroorganismen und mindestens einen Teil einer Nahrungsmittelzusammensetzung, insbesondere 1-1000 Teile, zusammen, d. h. gleichzeitig und in einer gemeinsamen Kammer, trocknen, wobei diese Teile im getrockneten Zustand gerechnet werden.

[0028] Die Nahrungsmittelzusammensetzung, die für die Herstellung der dehydratisierten Nahrungsmittelzusammensetzung verwendet wird, ist vorzugsweise eine flüssige Zusammensetzung, von der mindestens einer der Bestandteile beispielsweise aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Milch, Fleisch, Fisch, Obst und Gemüse besteht. Vorzugsweise konzentriert man die Nahrungsmittelzusammensetzung vor der Zerstäubung bis zu einem Wassergehalt von weniger als 70 Gew.-%.

[0029] Diese Nahrungsmittelzusammensetzung kann auch beispielsweise einen fein zerteilten gegarten oder rohen Teil umfassen, der von einem verzehrbaren Pflanzenmaterial stammt, bei dem es sich um Samen, Wurzeln, Knollen, Stängel, Blätter, Blüten oder Früchte handeln kann. Als bevorzugtes Pflanzenmaterial kann man insbesondere nennen: Blätter, und zwar insbesondere Lauch, Spargel, Fenchel und Kohl; Stängel, insbesondere Rhabarber und Brokkoli, Samen wie Kakao, Erbsen, Soja oder Getreide; gewisse Wurzeln, insbesondere Karotten, Zwiebeln, Rettich, Sellerie, rote Beete; Knollen, insbesondere Maniok und Kartoffeln; Früchte, insbesondere Tomaten, Zucchini, Auberginen, Banane, Apfel, Aprikose, Melone, Wassermelone, Birne, Pflaume, Pfirsich, Kirsche, Kiwi, Sanddorn, Mispel und Mirabelle. Als Pflanzenmaterial kann man auch höhere Speisepilze, beispielsweise insbesondere *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*, *Boletus edulis* oder *Lentinus edodes*, verwenden.

[0030] Diese Nahrungsmittelzusammensetzung kann auch einen fein verteilten gegarten oder rohen Teil umfassen, der von einem Tier stammt, wobei es sich beispielsweise um Milch, Ei, Fleisch, Fisch und/oder eine ihrer Fraktionen handeln kann, insbesondere eine Proteinfraction und/oder ein Proteinhydrolysat. Diese Nahrungsmittelzusammensetzung kann also beispielsweise auch hydrolysierte und hypoallergene Kuhmilch gemäß der europäischen Richtlinie 96/4/EC (Official Journal of the European Communities, Nr. OJ L49/12, 1996), sein.

[0031] Die Sprühtrocknungsvorrichtungen, die gewöhnlich für die industrielle Herstellung von Milch- oder Kaffee pulver verwendet werden, können besonders gut an die Anforderungen der vorliegenden Erfindung adaptiert werden (vgl. Jensen J. D., Food technology, June 60-71, 1975). Beispielsweise kann man die in IE65390 (Charleville Res. LTD) und US 4702799 (Nestle) beschriebenen Sprühtrocknungsvorrichtungen leicht anpassen.

[0032] Diese Vorrichtungen besitzen vorzugsweise im Betrieb eine Zone mit sehr hoher Temperatur (200-400°C) am Ende der Zerstäubungsdüse, wobei diese Zone bis zu 50% des Volumens der Kammer, vorzugsweise 0,1% bis 20%, darstellen kann, wobei der Rest der Vorrichtung eine niedrigere Temperatur besitzt, die beispielsweise die Austrittstemperatur erreichen kann. Die in US 3065076 (Nestle) beschriebene Vorrichtung, erfüllt diese Anforderungen besonders gut.

[0033] Diese Vorrichtungen besitzen ferner vorzugsweise im Betrieb einen Sekundärlufteintritt, wobei die Sekundärluft eine Temperatur besitzt, die gewählt wird, um die Temperatur der Luft am Austritt der Vorrichtung einzustellen. Dieser Sekundärlufteintritt kann beispielsweise in Nähe des oben beschriebenen Heißlufteintritts angeordnet sein.

[0034] Wenn man gleichzeitig eine Mikroorganismen enthaltende Zusammensetzung und eine andere Nahrungsmittelzusammensetzung trocknen möchte, muss man mindestens eine Zerstäubungsdüse pro Zusammensetzung vorsehen. Im Betrieb ist der Standort der Zerstäubungsdüsen nicht entscheidend. Deshalb kann man die beiden Zusammensetzungen beispielsweise auch in der Zone mit sehr hoher Temperatur zerstäuben. Man kann beispielsweise auch die Nahrungsmittelzusammensetzung in der Zone mit sehr hoher Temperatur zerstäuben und gleichzeitig die Mikroorganismen in einer Zone mit einer niedrigeren Temperatur zerstäuben.

[0035] Die Erfindung beruht im Grunde in der geeigneten Wahl der Verweilzeit der Mikroorganismen in der Trocknungsvorrichtung. Die zerstäubten Tröpfchen gelangen vorzugsweise in einer getrockneten Form zum Austritt der Vorrichtung, d. h. dort, wo die Austrittstemperatur beispielsweise etwa 40-90°C beträgt. Diese Verweilzeit kann mit Hilfe der verschiedenen Parameter eingestellt werden, die eine Sprühtrocknungsvorrichtung steuern, wie z. B. der Zerstäubungsdruck der Tröpfchen, der Druck des Heißluftstroms und/oder die Strecke, die die Tröpfchen in der Trocknungskammer durchqueren müssen. Es ist nicht möglich, genaue Werte für jeden Parameter, der an der Einstellung der Verweilzeit beteiligt ist, zu liefern, da diese Parameter und ihre zugeordneten Werte vom verwendeten Sprühtrocknungsvorrichtungstyp abhängen. Beispielsweise kann der an das Ende der Düsen zur Zerstäubung der Mikroorganismen oder der Nahrungsmittelzusammensetzung angelegte Druck 5-250 bar betragen und der Druck der Heißluft am Eintritt der Vorrichtung kann zwischen 100 und 200 mbar liegen. Um die Definition dieser Einstellung der Verweilzeit der Kultur gemäß der Erfindung zu vereinfachen, gilt, dass diese Temperatur erfindungsgemäß ist, wenn die Überlebensrate der Bakterien, die getrocknet wurden, mindestens 1% beträgt, wobei der Fachmann in der Lage ist, die geeigneten Arbeitsparameter zum Erreichen dieses Ergebnisses auszuwählen.

[0036] Die Verweilzeit der Kultur in der Trocknungsvorrichtung wird vorzugsweise so eingestellt, dass man auch ein Pulver mit einer Wasseraktivität (*Aw*) bei 25°C zwischen 0,05 und 0,5 erhält. Die besten Überlebensraten nach Trocknung und während der Lagerung werden nämlich bei einem Pulver erreicht, dessen Wasser-

aktivität in diesem Bereich liegt.

[0037] Ferner werden die besten Überlebensraten nach Trocknung und während der Lagerung erhalten, wenn die Trocknungsvorrichtung eine der folgenden Bedingungen erfüllt: eine Eintrittstemperatur von 250–400°C, eine Austrittstemperatur von 50–75°C und eine Verweilzeit der Kultur, die so eingestellt ist, dass man mindestens eine Überlebensrate von 10% nach Trocknung erhält.

[0038] Andere Parameter können auch das Überleben der Mikroorganismen beeinflussen. So kann die relative Feuchtigkeit der Austrittsluft der Trocknungsvorrichtung etwa 10–40%, vorzugsweise 20–40% betragen. Ferner kann man in die Mikroorganismen enthaltende Zusammensetzung vor der Zerstäubungsdüse ein in Nahrungsmittelverfahren verwendbares Inertgas einführen, und zwar insbesondere beispielsweise CO₂, Stickstoff, Argon, Helium allein oder in Mischung.

[0039] Wenn man nur die Kultur von Mikroorganismen trocknet, kann das vorliegende Verfahren auf diese Weise ein Pulver von Mikroorganismen liefern, das beispielsweise eine Dichte von 200–1000 g/l jedoch vorzugsweise 500–800 g/l, eine Aw bei 25°C von 0,05–0,5, mindestens 10⁷ cfu/g, jedoch vorzugsweise 10⁸–10¹¹ cfu/g und eine Überlebensrate der Mikroorganismen von mindestens 10% pro Jahr bei 4–27°C, vorzugsweise von mindestens 90% pro Jahr bei 4–27°C hat. Dieses Pulver von Mikroorganismen kann bei Kühl- oder Tiefkühltemperaturen gelagert werden, bevor es als inoculum für die Fermentation von Nahrungsmittelprodukten oder kosmetischen oder pharmazeutischen Produkten verwendet wird. Dieses Pulver kann auch direkt oral verabreicht werden oder mit gewissen festen oder flüssigen Nahrungsmitteln gemischt werden. Es kann beispielsweise mit Milch gemischt werden, mit der man die Flasche für einen Säugling füllt, oder auch mit Pulvermilch. Sie kann auch beispielsweise mit anderen Nahrungsmitteln gemischt werden, die dazu bestimmt sind, einem Patienten in stationärer Behandlung enteral verabreicht zu werden.

[0040] Desgleichen kann das vorliegende Verfahren, wenn man eine dehydratisierte Nahrungsmittelzusammensetzung herstellt, auf diese Weise ein leicht dispergierbares Nahrungsmittelpulver liefern, das eine Dichte von etwa 200–1000 g/l, eine Aw bei 25°C von etwa 0,05–0,5 und 1 bis 10⁹ cfu/g besitzt und eine Überlebensquote der Mikroorganismen von mindestens 10% pro Jahr bei 20°C aufweist.

[0041] Die vorliegende Erfindung wird im Nachstehenden ausführlicher anhand der folgenden Beschreibungsergänzung beschrieben, die sich auf Beispiele der Trocknung von Kulturen von Milchsäure- und Hefebakterien bezieht. Die Prozentsätze sind, sofern nicht anders angegeben, in Gewicht ausgedrückt. Diese Beispiele dienen natürlich lediglich zur Veranschaulichung des Gegenstands der Erfindung und begrenzen diese in keiner Weise.

Beispiele 1–4

[0042] Man trocknet durch Sprühtrocknung eine Kultur des Stamms *Lactobacillus johnsonii* CNCM I-1225 menschlichen Ursprungs, der in EP 577904 (Société des Produits Nestlé) als ein in einem Sauerstoffmedium schwer überlebender probiotischer Stamm beschrieben wird.

[0043] Zu diesem Zweck mischt man 3% einer frischen Vorkultur des Stamms CNCM I-1225 in einem MRS-Medium mit sterilem MSK-Medium, das zu 10% rekonstituiertes Magermilchpulver, 0,1% handelsüblichem Hefeextrakt, 0,5% Pepton und 0,1% Tween 80 enthält, und fermentiert dann während 8 Stunden bei 40°C ohne Rühren.

[0044] Dann stellt man eine Kultur dieses Stamms in großem Maßstab her, indem man ein steriles MSK-Medium, das zu 10–25% rekonstituiertes Magermilchpulver, 0,1% handelsüblichen Hefeextrakt, 0,5% Pepton und 0,1% Tween 80 enthält, mit 3% der oben beschriebenen fermentierten Mischung bei 40°C bis zu einem pH von 5,5 fermentiert (etwa 1–3 Stunden), und zwar indem mit 30 U/min gerührt wird, und unter einer CO₂-Atmosphäre. Man führt die Fermentation bei pH 5,5 durch Zusatz einer alkalischen Base während einiger Stunden weiter. Dann kühlt man die Kultur auf 15–20°C.

[0045] In den Beispielen 1 bis 4 setzt man der Kultur 2 Gew.-% Ascorbinsäure und 1,25 Gew.-% Natriumglutamat zu. Dann trocknet man die einzelnen Mischungen durch Sprühtrocknung in einer adaptierten Vorrichtung, wie sie in Fig. 1.c in US 3065076 beschrieben wird, und zwar mit dem Unterschied, dass man keine Agglomeriervorrichtung verwendet; man rezykliert das Pulver, das in die dem Trockner zugeordnete Staubrückgewinnungsvorrichtung gegangen ist, in die Kammer; man führt Sekundärluft mit einer Temperatur von 18–30°C (je nach Umgebungstemperatur) in Nähe des Heißlufteintritts mit Hilfe einer einfachen Öffnung der

Kammer zum umgebenden Medium ein; man führt in die Kultur unmittelbar vor der Zerstäubung CO₂ und/oder Stickstoff ein.

[0046] Es ist ferner zu bemerken, dass das Pulver auf einem Wirbelbett gewonnen wird, das über 3 Kammern geht, wobei die beiden ersten Kammern dazu dienen, das Pulver bei Temperaturen von 60–90°C noch mehr zu trocknen, und die letzte Kammer zum Kühlen des Pulvers auf etwa 30°C dient. Die Arbeitsbedingungen sind in der nachstehenden Tabelle 1 beschrieben.

[0047] Nach Trocknung gewinnt man das Pulver, verdünnt einen Teil davon im keimfreiem Wasser und breitet es auf einem MRS-Agar-Medium (De Man et al, 1960) aus, um die Anzahl lebender Bakterien zu zählen.

[0048] Man bestimmt ferner die Wasseraktivität des Pulvers, die als das Verhältnis zwischen dem Teildampfdruck des Wassers an der Oberfläche des Pulvers und dem Dampfdruck von reinem Wasser bei gleicher Temperatur definiert ist. Man kann die Aw durch die Messung der relativen Gleichgewichtsfeuchtigkeit bestimmen, die in einer geschlossenen Kammer bei konstanter Temperatur erreicht wird. Zu diesem Zweck wird eine Probe von einigen Gramm Pulver in einen dichten Behälter eingeschlossen, der in eine auf 25°C thermostatierte Kammer eingesetzt wird. Der leere Raum um diese Probe herum erreicht im Gleichgewicht nach 30–60 min denselben Aw-Wert wie die Probe. Ein im Verschlussdeckel des Behälters montierter elektronischer Fühler misst nun die Feuchtigkeit dieses Leerraums über einen elektrolytischen Widerstand.

[0049] Man verpackt die einzelnen Pulver von Mikroorganismen in versiegelten Behältern, die eine Stickstoff- und/oder CO₂-Atmosphäre enthalten, konserviert jeden Behälter bei 20°C oder 27°C während 12 Monaten, bestimmt periodisch die Anzahl lebender Bakterien und errechnet dann die Anzahl von Monaten (Wert D), die theoretisch erforderlich sind, um 90% der Milchsäurebakterien bei 20°C oder 27°C zu verlieren.

[0050] Zum Vergleich misst man bei identischen Lagerungsbedingungen das Überleben von Bakteriensätzen CNM I-1225, die auf herkömmliche Weise lyophilisiert wurden (Hansen, DK), und errechnet die Anzahl von Monaten (Wert D), die theoretisch erforderlich sind, um 90% der Milchsäurebakterien bei 20°C oder 27°C zu verlieren.

Tabelle 1

| Arbeitsbedingungen | Beispiel 1 | Beispiel 2 | Beispiel 3 | Beispiel 4 |
|------------------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|--|
| % Trockenmasse | 27,31 | 13,13 | 27,89 | 26,75 |
| pH | 6,12 | 5,8 | 5,83 | 6,80 |
| Gas (l/min) | 5,6 (CO ₂) | 2,2 (N ₂) | 3,8 (CO ₂) | 6,4 (N ₂ /CO ₂) |
| Zerstäubungsdruck (bar) | 65 | 230 | 78 | 201 |
| Luft am Eintritt (°C) | 317 | 310 | 320 | 309 |
| Druck der Heißluft (mbar) | 160 | 130 | 160 | 130 |
| Luft am Austritt (°C) | 64 | 60 | 71 | 72 |
| Feuchtigkeit der Austrittsluft (%) | 21 | 20 | 21 | 28 |
| Feuchtigkeit des Pulvers (%) | 2,88 | 3,19 | 3,90 | 3,71 |
| Wasseraktivität des Pulvers (Aw) | 0,182 | 0,071 | 0,147 | 0,143 |
| Pulverausbeute (kg/h) | 67 | 37 | 72 | 123 |
| Dichte des Pulvers (g/l) | 520 | 400 | 500 | 310 |

| | | | | |
|---|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| Cfu/ml vor Zerstäubung | $5,2 \times 10^8$ | 8×10^8 | $5,8 \times 10^8$ | $5,9 \times 10^8$ |
| Cfu/g nach Zerstäubung | $2,2 \times 10^8$ | $9,65 \times 10^8$ | $2,7 \times 10^8$ | $3,2 \times 10^8$ |
| Viabilitätsverlust (log cfu/g) | 0,92 | 0,79 | 0,87 | 0,82 |
| Viabilität nach Trocknung (%) | 12,02 | 16,21 | 13,48 | 15,14 |
| Wert D (Monate) bei 20°C | >12 | >12 | >12 | >12 |
| Wert D (Monate) bei 27°C | >12 | >12 | >12 | >12 |
| Wert D bei einem bei 20°C gelagerten lyophilisierten Bakteriensatz CNCM I-1225: 10,1 Monate | | | | |
| Wert D bei einem bei 27°C gelagerten lyophilisierten Bakteriensatz CNCM I-1225: 6,6 Monate | | | | |

[0051] Die in Tabelle 1 angeführten Ergebnisse zeigen, dass man direkt nach Trocknung mehr als 16% Überleben der Milchsäurebakterien und nach Lagerung bei hohen Temperaturen eine bemerkenswerte Stabilität der Milchsäurebakterien erhalten kann.

Beispiel 5

[0052] Man trocknet durch Sprühtrocknung eine Kultur des in EP 663441 (Nestle) beschriebenen Stamms *Saccharomyces cerevisiae* NCIMB 40612.

[0053] Zu diesem Zweck nimmt man eine Fermentation des Stamms NCIMB 40612 in dem herkömmlichen Fed-Batch-Verfahren vor, indem man bei 30°C unter zunehmendem Rühren (250 bis 450 rpm) und zunehmender Belüftung (0,02 bis 0,8 m³/h) während 24 Stunden inkubiert, indem man den pH-Wert durch Zusatz von entsprechenden Mengen von NH₄OH auf 4,5 hält, indem man den erzeugten Schaum durch Zusatz von zunehmenden Mengen des Schaumstoppers Contraspum 210 (1,5 Gew.-%/Volumen Medium; Binggeli-Chemie, Schweiz) steuert und indem man regelmäßig eine angemessene zunehmende Menge des Mediums "Melasse" (84,85% sterile Melasse, 13,85% Wasser, 1% H₂SO₄) zusetzt.

[0054] Dann trocknet man die Hefen bei denselben Bedingungen wie in Beispiel 2.

Beispiel 6

[0055] Mit diesem Beispiel soll gezeigt werden, dass die Zerstäubung einer Nahrungsmittelzusammensetzung, die weniger als 25 Gew.-% einer probiotischen Milchsäurebakterienkultur enthält, weniger gute Überlebensquoten als diejenigen ergeben kann, die in den Beispielen 7 bis 9 erhalten werden, wenn man eine probiotische Bakterienkultur und eine Nahrungsmittelzusammensetzung gemeinsam zerstäubt.

[0056] Man stellt eine fermentierte Milch, wie in den Beispielen 1 bis 4 beschrieben, her, setzt ihr 2 Gew.-% Ascorbinsäure, 1,25 Gew.-% Natriumglutamat und 300 Gew.-% konzentrierte Milch mit 50 Gew.-% Trockenmasse zu und trocknet dann die Mischung durch Sprühtrocknung mit der in den Beispielen 1-4 beschriebenen Vorrichtung und bei den in der nachstehenden Tabelle 2 angeführten Arbeitsbedingungen. Wie in den Beispielen 1 bis 4 beschrieben wurde, zählt man nach Trocknung die Anzahl überlebender Bakterien. Die Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle 2 angeführt.

Beispiele 7-9

[0057] Man trocknet durch Sprühtrocknung gemeinsam Milch und eine Kultur des Stamms *Lactobacillus johnsonii* CNCM I-1225.

[0058] Zu diesem Zweck stellt man eine Bakterienkultur her, wie in den Beispielen 1 bis 4 beschrieben wurde, setzt ihr Schutzmittel zu und zerstäubt gemeinsam kontinuierlich einen Teil dieser Bakterienkultur mit etwa 40

bis 100 Teilen konzentrierter Milch mit 50% Trockenmasse, wobei diese Zerstäubung gleichzeitig in adaptierten Vorrichtungen der in Fig. 1c von US 3065076 beschriebenen Art durchgeführt wird.

[0059] Wie in den Beispielen 1 bis 4 beschrieben wurde, gewinnt man das Pulver nach Zerstäubung auf einem über 3 Kammern gehenden Wirbelbett, wobei die beiden ersten Kammern dazu dienen, das Pulver bei Temperaturen von 60–90°C noch stärker zu trocknen, und die letzte Kammer zum Kühlen des Pulvers auf etwa 30°C dient. Man zählt dann die Anzahl lebender Bakterien in dem dehydratisierten Nahrungsmittelpulver, indem man die mit der Milch vorgenommene Verdünnung berücksichtigt.

[0060] Die Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle 2 angeführt. Die verschiedenen Pulver besitzen außerdem Stabilitäten in der Zeit, die denen ähnlich sind, die bei den in den Beispielen 1 bis 4 beschriebenen Pulvern von Mikroorganismen erhalten werden.

[0061] In Beispiel 7 führt man gleichzeitig die beiden Zerstäubungen in der in Fig. 1c von US 3065076 dargestellten Vorrichtung durch, und zwar mit dem Unterschied, dass man keine Agglomerationsvorrichtung verwendet. Man rezykliert das Pulver, das in die Staubgewinnungsvorrichtung gegangen ist, in die Kammer. Man spritzt Sekundärluft mit einer Temperatur von 18–30°C (je nach Umgebungstemperatur) in Nähe des Heißlufteintritts mit Hilfe einer einfachen Öffnung der Kammer zum Außenmedium ein. Man injiziert in die Kultur unmittelbar vor der Zerstäubung CO₂ und man zerstäubt gleichzeitig die Kultur und die Milch mit Hilfe von zwei Düsen, deren Enden in der Kammer auf Höhe des Heißlufteintritts angeordnet sind (derselbe Standort wie die Düse 14 von Fig. 1c von US 3065076). Die Arbeitsbedingungen sind in der nachstehenden Tabelle 2 angeführt.

[0062] In den Beispielen 8–9 führt man gleichzeitig die beiden Zerstäubungen in der in Fig. 1c von US 3065076 dargestellten Vorrichtung aus, und zwar mit dem Unterschied, dass man keine Agglomerationsvorrichtung verwendet. Man rezykliert das Pulver, das in die Staubgewinnungsvorrichtung gegangen ist, in die Kammer, wobei der Eintritt des rezyklierten Pulvers auf halber Höhe der Kammer stattfindet. Man spritzt Sekundärluft mit einer Temperatur von 18–30°C (je nach Umgebungstemperatur) in Nähe des Heißlufteintritts mit Hilfe einer einfachen Öffnung der Kammer zum Außenmedium ein und man zerstäubt die Milch mit Hilfe einer Düse, deren Ende in der Kammer auf Höhe der Achse und des Endes des Heißlufteintritts angeordnet ist (derselbe Standort wie bei der Düse 14 von Fig. 1c von US 3065076). Gleichzeitig zerstäubt man die Bakterienkultur mit Hilfe einer Düse, deren Ende in der Kammer auf Höhe der Achse und des Endes des Eintritts des rezyklierten Pulvers angeordnet ist. Die Arbeitsbedingungen sind in der nachstehenden Tabelle 2 angeführt.

Tabelle 2

| Arbeitsbedingungen | Beispiel 6 | Beispiel 7 | Beispiel 8 | Beispiel 9 |
|---------------------------------------|------------------------|------------------------|--|--|
| <u>Bakterienkultur</u> | | | | |
| Schutzmittel | *Milch+A-NG | *M+A+T | *M+A+NG | *M+A+T |
| % Trockenmasse | 41,82 | 31,08 | 28,79 | 31,08 |
| pH | 6,3 | 6,15 | 6,48 | 6,15 |
| Gas (l/min) | 6,5 (CO ₂) | 2,5 (CO ₂) | --- | --- |
| Durchsatz (l/h) | 496,3 | 78 | 30 | 53 |
| Zerstäubungsdruck (bar) | 59 | 70 | 8 (Düsen mit zwei Phasen: N ₂) | 1 (Düsen mit zwei Phasen: N ₂) |
| <u>Milch</u> | | | | |
| % Trockenmasse | -- | 46,88 | 46,88 | 46,88 |
| Durchsatz (kg/h) | -- | 378 | 556 | 420 |
| Zerstäubungsdruck (bar) | -- | 30 | 48 | 38 |
| Luft am Eintritt (°C) | 310 | 309 | 310 | 305 |
| Druck der Heißluft (mbar) | 190 | 164 | 190 | 160 |
| Luft am Austritt (°C) | 65 | 65 | 64 | 65 |
| Feuchtigkeit der Luft am Austritt (%) | 20,7 | 20 | 24,2 | 20,6 |
| Feuchtigkeit des Pulvers (%) | 3,3 | 3,5 | 3,8 | 4,0 |
| Pulverausbeute (kg/h) | 215 | 209 | 280 | 220 |
| Dichte des Pulvers (g/l) | 440 | 535 | 335 | 320 |
| Cfu/ml vor Zerstäubung | 1,2 x 10 ¹⁰ | 4,45 x 10 ⁹ | 9,63 x 10 ⁹ | 5,81 x 10 ⁹ |
| Cfu/g nach Zerstäubung | 5,3 x 10 ⁶ | 6 x 10 ⁷ | 6,5 x 10 ⁷ | 8,2 x 10 ⁷ |
| Viabilitätsverlust (log cfu/g) | 3,72 | 1,42 | 1,19 | 1,23 |
| Viabilität nach Trocknung (%) | <0,1 | 3,8 | 6,45 | 5,88 |

| | |
|-----------------|--|
| *Milch + A + NG | 300% konzentrierte Milch mit 50% Trockenmasse + 2% Ascorbinsäure + 1,25% Natriumglutamat |
| *M + A + NG | 100% konzentrierte Milch mit 50% Trockenmasse + 2% Ascorbinsäure + 1,25% Natriumglutamat |
| *M + A + T | 100% konzentrierte Milch mit 50% Trockenmasse + 5% Ascorbinsäure + 5% Trehalose |

Beispiel 10

[0063] Man zerstäubt gleichzeitig bei den in Beispiel 8 beschriebenen Bedingungen eine Milchkulturenkultur CNCM I-1225, die 5% Ascorbinsäure und 5% Trehalose enthält, und einen fein verteilten konzentrierten Tomatensaft mit 50% Trockenmasse.

Beispiel 11

[0064] Man zerstäubt bei den in Beispiel 8 beschriebenen Bedingungen gleichzeitig eine Milchkulturenkultur CNCM I-1225, die 5% Ascorbinsäure und 5% Trehalose enthält, und eine pflanzliche Milch auf Basis von Soja mit 50% Trockenmasse.

Patentansprüche

1. Sprühtrocknungsverfahren, bei dem man eine Zusammensetzung herstellt, die für die menschliche Ernährung günstige Mikroorganismen enthält, und sie in einer Sprühtrocknungsvorrichtung mit einer Heißlufttemperatur von 250–400°C und einer Luftaustrittstemperatur von 50–75°C durch Zerstäubung zu Pulver zerkleinert, wobei die Verweilzeit der Zusammensetzung in der Vorrichtung so eingestellt wird, dass mindestens 10% der Mikroorganismen nach Trocknung überleben.

2. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem man die Zusammensetzung vor der Zerkleinerung zu Pulver konzentriert.

3. Verfahren nach Anspruch 2, bei dem die Zusammensetzung nach der Konzentration weniger als 70% Wasser enthält.

4. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem die Verweilzeit der Zusammensetzung in der Trocknungsvorrichtung so eingestellt wird, dass man ein Pulver mit einem Aw-Wert bei 25°C von 0,05 bis 0,5 erhält.

5. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem die Zusammensetzung mindestens ein Schutzmittel enthält, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Vitaminen wie Ascorbinsäure, Aminosäuren oder ihren Salzen wie Lysin, Cystein, Glycin und Natriumglutamat, wobei die Proteine oder Proteinhydrolysate von Milch oder Soja stammen können, Zucker wie Lactose, Trehalose, Saccharose, Dextrin und Maltodextrin und Fette, insbesondere Butterfett, Palmfett, Erdnussfett, Kakaofett, Kolzaöl oder Sojaöl, besteht.

6. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem die Zusammensetzung mindestens 80 Trockengew.-% einer Nahrungsmittelzusammensetzung enthält.

7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man in der Sprühtrocknungsvorrichtung gleichzeitig die Mikroorganismen enthaltende Zusammensetzung und eine andere Nahrungsmittelzusammensetzung zerstäubt.

8. Verfahren nach Anspruch 7, bei dem man gleichzeitig 1 Teil einer Kultur von Mikroorganismen und mindestens einen Teil einer Nahrungsmittelzusammensetzung zerstäubt, wobei diese Teile im trockenen Zustand gerechnet werden.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen